Pflanzenschutz Berichte

Herausgegeben von der

Bundesanstalt für Pflanzenschutz Wien

Schriftleiter:
Dr. FERDINAND BERAN, Wien

X. Band, 1953, Heft 5/6

INHALT:

Alexander Janke, Ferdinand Beran u. Gertrude Schmidt: Über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Pilze. - II.

Hans Wenzl und Hans Fuchs: Untersuchungen über die Schadensbedeutung der Vergilbungskrankheit der Zuckerrübe in Österreich.

Referate

Im Selbstverlag der Bundesanstalt für Pflanzenschutz

Wien

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
3 JUN 1955

PFLANZEN SCHUTZ MITTEL

Ungereinigte Hexa-Präparate:

Gegen Engerlinge und Drahtwürmer . . . . . CIT - 20
Gegen Erdflöhe und Ameisen . . . . . CIT - 7·5
Gegen Borkenkäfer im Forstbetrieb . . . . . CIT - 7·5

Gereinigte Hexa-Präparate:

Gegen Blattläuse im Feldbau . . . . . CIT - 80 G
Gegen Blattläuse im Obst- und Feldbau . . . . . CIT - 70 G

CIT - FABRIK CHEM. TECHN. PRODUKTE - GRAZ - GÖSTING

DICOPUR

reinigt Feld und Flur

PFLANZENSCHUTZBERICHTE

HERAUSGEGEBEN VON DER BUNDESANSTALT FÜR PFLANZENSCHUTZ
WIEN II., TRUNNERSTRASSE NR. 1

OFFIZIELLES PUBLIKATIONSORGAN DES ÖSTERREICHISCHEN PFLANZENSCHUTZDIENSTES

X. BAND	APRIL 1953	HEFT 5/6

Aus der Bundesanstalt für Pflanzenschutz, Wien

Über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Pilze

Beitrag zur Kenntnis der Wirkungsweise von Schwermetall-Mikrobiziden

II. Über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Brandpilze*)

Von

Alexander Janke, Ferdinand Beran und **Gertrude Schmidt**

A. Allgemeines über die Bekämpfung der Brandpilze durch Schwermetalle

Bei der Bekämpfung verschiedener Brandkrankheiten der Getreidearten spielt die Beizung der Körner mit Schwermetallsalzen — vor allem mit **Kupfer-** und **Quecksilber-Verbindungen** — schon seit langer Zeit eine hervorragende Rolle. Es ist daher begreiflich, daß schon frühzeitig das Bestreben darauf gerichtet war, einen Einblick in den Wirkungsmechanismus dieser Substanzen zu gewinnen.

Ob bei der Wirkung von Schwermetallsalzen auf Brandsporen Ausscheidungsprodukte der letzteren mit den ersteren in Reaktion treten, läßt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit entscheiden. Bei Sporen verschiedener Pilze ist nämlich festgestellt worden, daß sie Sekretionen bilden, die vor allem aus Oxy- und Aminosäuren bestehen und mit Fungiziden in Reaktion treten, ja auf letztere sogar eine lösende Wirkung ausüben können, worüber man die zusammenfassende Darstellung bei McCallan (1949) vergleiche. Nun hat Parker-Rhodes (1941, 1942[1], 1942[2]) die Hypothese aufgestellt, daß die Reaktion der Metallsalze mit den Exkreten und dem Sporenmaterial eine Anzahl

*) I. Teil (Janke und Beran, 1952): Die Bedeutung der Thiol-Verbindungen für die lebende Zelle und deren Beeinflussung durch keimschädigende Mittel.
Diese Zeitschrift, **VIII.**, S. 161—178 (1952). — Daselbst soll es auf S. 168, Z. 15, richtig heißen: — stabile Fünferringe bilden.

von Stufen durchläuft, deren jede separat zu den relativen Abweichungen der Toleranz beiträgt, wobei die letztere durch die Konzentration des Metalls gemessen wird, die zur Verhinderung der Sporenkeimung gerade ausreicht. Es wird nun die Annahme gemacht, daß die Variabilität mit der Anzahl der durchlaufenen Stufen zunimmt und daß daher unter zwei verschiedenen Verbindungen desselben Metalls jene mit der geringeren Variabilität eine geringere Zahl von Stufen durchläuft. Auf diese Weise will man einen Einblick in den Reaktionsmechanismus erhalten.

Bei der Einwirkung von Schwermetall-Verbindungen auf Brandsporen kommt es nach eingetretener Quellung der letzteren wohl zunächst zu einer reversiblen Bindung (Adsorption) der erstgenannten bzw. ihrer Ionen, worauf dann irreversible chemische Umsetzungen folgen können. So ließ sich bei der Einwirkung von **Kupfer**-Ionen auf lebende Maisbrandsporen feststellen, daß das zunächst adsorbierte **Cu** durch Wasser sowie durch kalte verdünnte Mineralsäuren wieder abtrennbar ist, während dies bei chemisch gebundenem **Kupfer** selbst durch Kochen mit starken Säuren nicht zur Gänze möglich war (Pichler u. Wöber, 1922). Bei den Sporen des Weizensteinbrandes, Tilletia tritici (Bjerk.) Winter, lag die geringste adsorbierte **Kupfer**-Menge, die eine Auskeimung der Sporen in $Ca(NO_3)_2$-Lösung gerade noch verhinderte, bei 0·5% **Cu;** ferner war eine Loslösung des **Kupfers** aus den Adsorbaten, also eine Reversibilität der Adsorption, außer durch Säurebehandlung der Sporen auch durch Einbringen derselben in feuchten Boden zu erzielen (Bodnár u. Terényi, 1930). Diese Reversibilität konnte bei Verwendung komplexer **Kupfer**-Ionen, wie z. B. $[Cu(NH_4)_3]^{\cdot\cdot}$ im **Kupferammoniumsulfat,** nicht beobachtet werden, welchen Umstand Bodnár u. Terényi auf das Eindringen der komplexen Ionen in das Zellinnere zurückführen.

Beim **Quecksilber,** das stärker als **Kupfer** adsorbiert wird, tritt durch Zusatz von NaCl zu $HgCl_2$ infolge Komplexsalzbildung eine Erniedrigung des Adsorptionseffektes ein, was zufolge Pichler u. Wöber (1922) offenbar darin seine Ursache hat, daß das **Quecksilber** sich im Anion $[HgCl_3]^-$ befindet.

Für gewöhnlich wird die primäre Adsorption als ein rein physikalischer Prozeß den sekundären chemischen Umsetzungen gegenübergestellt. Da aber die Adsorption von Schwermetall-Ionen bereits mit chemischen Umsetzungen im Zusammenhang stehen dürfte, erscheint es zweckmäßiger zwischen reversiblen und irreversiblen Bindungen zu unterscheiden.

Wie bereits im ersten Teil dieser Arbeit (Janke u. Beran, 1952) ausgeführt wurde, ist es bei Bakterien gelungen, die schädigende Wirkung von **Hg**-Verbindungen — und zwar des **Sublimats** und des basischen **Phenyl-merkuri-nitrats** — durch Zugabe von Substanzen mit Thiolgruppen auszuschalten. Auch über die Versuche von Ciferri, Bal-

dacci u. Borzini (1947) an Alternaria tenuis ist bereits berichtet worden. Diese hatten ergeben, daß die Wirkung des **Zysteins** je nach der Art der **Hg**-Verbindung eine verschiedene war. So wurde die fungistatische Wirkung des **o-Nitrokresol-Hg-Azetats** und zweier nicht näher definierter anderer **Hg**-Verbindungen durch **Zystein** herabgesetzt, während jene einiger anderer komplexer Hg-Verbindungen (vgl. ersten Teil) eine Erhöhung erfuhr; bei einem Markenpräparat (ohne nähere Zusammensetzung) aber blieb der **Zystein**-Zusatz ohne jeglichen Einfluß.

Es sollte nun untersucht werden, in welcher Weise die Wirkung von **Hg**- und **Cu**-Verbindungen auf die Sporen von Tilletia tritici durch Thiol-Gruppen beeinflußt wird.

B. Versuche über die Hemmung der Brandsporen-Keimung durch Quecksilber- und Kupfer-Verbindungen und ihre Beeinflussung durch Thiol-Gruppen

1. Methodik

Die Brandsporen von Tilletia tritici (Bjerk.) Winter, die für die Versuche Verwendung fanden, stammten jeweils aus dem der Untersuchung vorhergehenden Jahr, und zwar handelte es sich nicht um die Ernte eines bestimmten Feldes, auch nicht um Material aus einer bestimmten Gegend, sondern vielmehr um Gemische von Brandsporen verschiedener Herkunft.

An Fungiziden kamen die in nachstehender Tabelle 1 verzeichneten zur Anwendung.

Tabelle 1

1	2	3		4	5
Verbindung	Zeichen	Konzentration in Mol	Konzentration in Millimol	Ausgangslösung (A_1)	Bereitung: x_1 ml A_1 mit dW aufgefüllt auf 10 ml
Sublimat	S_1	5.10^{-3}	5	10^{-2} mol (=2·71g/l)	5
[Hg Cl$_2$]	S_2	10^{-3}	1		1
	S_3	5.10^{-4}	0·5	10^{-3} mol (=0·27g/l)	5
Mol.-Gew.: 271·5	S_4	10^{-4}	0·1		1
Phenyl-Hg-Azetat	Ph_1	10^{-4}	0·1	10^{-3} mol (=0·34g/l)	1
[C_2H_5Hg.OOC.CH_3]	Ph_2	5.10^{-5}	0·05	10^{-4} mol (=0·034g/l)	5
Mol.-Gew.: 336·7	Ph_3	10^{-5}	0·01		1
Kupfersulfat	Ku_1	10^{-2}	10	10^{-1} mol (=25g/l)	1
[Cu SO$_4$.5aq]	Ku_2	10^{-3}	1	10^{-2} mol (= 2·5g/l)	1
Mol.-Gew.: 249·7	Ku_3	10^{-4}	0·1	10^{-3} mol (= 0·25g/l)	1

Die Tabelle 2 bringt die Thiol-Verbindungen, welche zur Unschädlichmachung der Fungizide benutzt wurden.

Tabelle 2

1	2	3		4	5
Verbindung	Zeichen	Konzentration in Mol	Konzentration in Millimol	Ausgangslösung (A_2)	Bereitung: x_2 ml A_2 mit Fung.-Lsg. +dW bzw. dW aufgef. auf 10 ml
Zystein(=α-Amino-β-merkapto-propionsäure) [$CH^2SH.CH.NH_2.COOH$] Mol.-Gew.: 121	Z_1	10^{-2}	10	2.10^{-2} (=2·4 g/l)	5
	Z_2	10^{-3}	1	2.10^{-3} (=0·24g/l)	5
	Z_3	10^{-4}	0·1		0·5
Thioglykolsäure (Merkapto-essigsäure) [$CH_2SH.CO OH$] Mol. Gew.: 92	Th_1	10^{-2}	10	10^{-1} (=9·2 g/l)	1
	Th_2	10^{-3}	1	10^{-2} (=0·92g/l)	1
	Th_3	10^{-4}	0·1	10^{-3} (=0·092g/l)	1
BAL (90%ig) (=2,3-Dimerkaptopropanol) [$CH_2SH.CHSH.CH_2OH$] Mol.-Gew.: 124	B_1	10^{-2}	10	10^{-1} (=13 g/l)	1
	B_2	10^{-3}	1	10^{-2} (= 1·3g/l)	1
	B_3	10^{-4}	0·1	10^{-3} (= 0·13g/l)	1

Bereitung der Beizlösungen: Tabelle 1 bringt in Kolonne 3 die Konzentrationen der Fungizide, die zur Anwendung kamen. Die Bereitung aus der jeweiligen Ausgangslösung (A_1 in Kolonne 4) erfolgte derart, daß die in Kolonne 5 angegebenen $x_1$ml derselben mit dest. Wasser auf 10 ml aufgefüllt wurden. So erhielten wir die Wirkung der Schwermetallverbindungen auf die Brandpilze (Fungizid-Kontrollen). Zur Erprobung der Wirkung der Thiol-Verbindungen erfolgte ein Zusatz derselben zu den Fungizid-Lösungen, und zwar wurden die in Kolonne 5 der Tabelle 2 angegebenen x_2-Werte der Ausgangslösung A_2 der **SH**-Verbindungen zu den in Kolonne 5 der Tabelle 1 verzeichneten x_1-Werte der Fungizid-Lösungen hinzugefügt und — sofern das Gemisch weniger als 10 ml ausmachte — mit dest. Wasser auf dieses Volumen aufgefüllt. Für die Wirkungserprobung der Thiol-Verbindungen allein (Thiol-Kontrollen) wurden die in Kolonne 5 der Tabelle 2 angegebenen $x_2$ml der Ausgangslösungen A_2 nur mit dest. Wasser auf 10 ml aufgefüllt.

Der Beizungs-Vorgang fand in folgender Weise statt: 50 mg Brandsporen wurden in 10 ml der jeweiligen Beizlösung, die sich in 50 ml Erlenmeyer-Kolben befanden, für 30 Minuten eingebracht und während

dieser Zeitspanne wiederholt geschüttelt. Nach Filtration durch ein in eine Nutsche eingelegtes Papierfilter ließen wir die Sporen während 24 Stunden am Filter bei Zimmertemperatur trocknen. Das durch Abkratzen vom Filter erhaltene Sporenpulver wurde auf eine 0·1%ige Kalziumnitratlösung gebracht, und zwar kamen hiezu anfänglich Petrischalen mit einem Durchmesser von 9 cm, später kleine zylindrische Gefäße (24 mm Durchmesser und 15 mm Höhe) zur Verwendung. Die Schalen bzw. Zylinder wurden bei etwa 12° C — bei höherer Außentemperatur im Kühlschrank — aufbewahrt. Am 5. bzw. 6. Tag nach dem Aussäen der Sporen begann die mikroskopische Untersuchung, die sich auf Feststellung des Keimungsbeginns, der Keimungsprozente und eventuell auch der Keimschlauchlänge und der Häufigkeit der Sporidienbildung erstreckte. Bei Ausbleiben einer Keimung wurde die Prüfung durch 3 Wochen fortgesetzt.

Kontrollen: Außer den bereits erwähnten Fungizid-Kontrollen, die nur mit den Fungizid-Lösungen angestellt wurden, und den Thiol-Kontrollen, die bloß die Thiol-Verbindungen enthielten, kamen noch Keimungs-Kontrollen zur Verwendung, die weder Fungizide noch Thiol-Verbindungen aufwiesen. Einerseits behandelten wir die Brandsporen anstelle der Beizlösungen in gleicher Weise mit dest. Wasser, bevor wir sie auf die $Ca(NO_3)_2$-Lösung aufbrachten (K_W), anderseits wurden die Brandsporen direkt — also ohne jede Vorbehandlung — zur Keimung auf der $Ca(NO_3)_2$-Lösung angestellt (K_{Ca}).

2. Ergebnisse der Versuche mit Quecksilberverbindungen

a) Unter Verwendung von Zystein

Die Ergebnisse der Versuche mit **Sublimat** und **Phenylquecksilberazetat** bei Benutzung von **Zystein** als entgiftendes Mittel finden sich in Tabelle 3 verzeichnet.

Besprechung der Ergebnisse: 1. Die Keimungskontrollen K_W und K_{Ca} ergaben maximale Auskeimung. — 2. Aus den Fungizid-Kontrollen (**Hg**-Verbindung ohne **Zystein**-Zusatz) geht hervor, daß das **Sublimat** ab 1 Millimol je Liter und das **Phenyl-Hg-Azetat** bereits bei 0·1 Millimol je Liter die Keimung der Brandsporen vollständig hemmten. — 3. Während zur Unschädlichmachung der Totalhemmung durch 5 Millimol **Sublimat**/l (S_1) 10 Millimol **Zystein**/l, d. i. die äquivalente Menge (da 1 Mol. $HgCl_2$ 2 Mole **Zystein** abbindet) nicht ausreichten, war dies bei 1 Millimol $HgCl_2$/l der Fall, sofern 10 Millimol **Zystein**/l (Z_1), also die 5fache theoret. Menge, einwirkte. — 4. Die Konzentration S_3 des **Sublimats**, d. s. 0·5 Millimol/l bewirkte eine partielle Hemmung, die noch durch Z_2, d. i. 1 Millimol/l **Zystein**, also die äquivalente Menge, verhindert werden konnte. — 5. Zur Aufhebung der Totalhemmung durch 0·1 Millimol **Phenyl-Hg-Azetat** je Liter reichte 0·1 Millimol **Zystein**/l, also die äquivalente Menge (da 1 Mol **Phenyl-Hg-Azetat** mit 1 Mol **Zystein** rea-

giert), nicht hin, wohl aber 1 Millimol/l, also die 10fache theoretische Menge.

Tabelle 3

Fungizide		Zystein-Konzentrationen in Millimol je Liter (in Klammern)			
Zeichen	Millimol/l	Fung.-Kontr. (0)	Z_1 (10)	Z_2 (1)	Z_3 (0·1)
SH-Kontr.	0	++++*)	++++	++++	++++
S_1	5	–	–	–	–
S_2	1	–	++++	–	–
S_3	0·5	+++	++++	++++	+++
Ph_1	0·1	–	+++[1])	++[1])	–
Ph_2	0·05	+	+++[1])	++++	++++
Ph_3	0·01	++++	++++	++++	++++

Keimungskontrolle K_{Ca}
(Brandsporen direkt auf $Ca[NO_3]_2$-Lösung): ++++

*) Keimungskontrolle K_W

[1]) Wenig Sporidien.

Erklärung der Zeichen:

– keine Keimung
+ 0—5% Keimung
++ 5— 20% Keimung
+++ 20— 50% Keimung
++++ 50—100% Keimung

b) Unter Verwendung von Thioglykolsäure

Die Ergebnisse dieser Versuche bringt die Tabelle 4.

Besprechung der Ergebnisse: 1. Die Keimungs-Kontrollen K_W und K_{Ca} ergaben wieder maximale Auskeimung. — 2. **Thioglykolsäure** übte in einer Konzentration von 10 Millimol je Liter an und für sich auf die Brandsporen-Keimung eine hemmende Wirkung aus, so daß daher durch Zusatz einer solchen Menge zu den Fungiziden keine Auskeimung zu erwarten war. — 3. Die Partial-Hemmung durch 0·5 Millimol **Sublimat**/l konnte mit 1 Millimol **Thioglykolsäure,** d. i. die äquivalente Menge, aufgehoben werden. — 4. 0·1 Millimol **Sublimat**/l zeigte auch keine partielle Hemmung mehr. — 5. Die Totalhemmung durch 0·1 Millimol **Phenyl-Hg-Azetat**/l ließ sich durch 1 Millimol **Thioglykolsäure,** also die 10fache äquivalente Menge vollständig, durch 0·1 Millimol/l, demnach die äquivalente Menge, teilweise aufheben. — 6. Die Partialhemmung durch 0·05 Millimol **Phenyl-Hg-Azetat**/l konnte durch 0·1 Mil-

INSTITUT D'HYGIÈNE ET DE BACTÉRIOLOGIE
CENTRE DE COLLECTIONS DE TYPES MICROBIENS
(Pr. P. Hauduroy)
19, RUE CÉSAR ROUX — LAUSANNE

Cycle de Conférences sur

QUELQUES PROBLÈMES ACTUELS DE VIROLOGIE

(22 - 23 mai 1953)

PROGRAMME

VENDREDI 22 MAI:

9 h. 45 **Ouverture de la réunion.**

10 - 11 h. Pr. FLÜCKIGER: **Problèmes de l'immunisation contre la fièvre aphteuse dans la pratique.**

11 - 12 h. Pr. L'HÉRITIER: **Le virus héréditaire de la drosophile.**

15 - 16 h. Dr. CATEIGNE: **Problèmes actuels concernant les virus de la grippe.**

16 - 17 h. Dr. KENNETH SMITH: **Le problème de la latence et de l'infection croisée dans les maladies à polyhèdres des insectes.**

SAMEDI 23 MAI:

10 - 11 h. Pr. VERGE: **Le problème de l'immunisation dans les maladies à virus des animaux.**

11 - 12 h. Dr. KLIENEBERGER-NOBEL: **Les organismes du groupe de la pleuropneumonie, la phase L des bactéries et leurs relations possibles avec les virus.**

15 - 16 h. Pr. HAUDUROY: **Les virus endormis.**

16 - 17 h. Pr. LEPINE: **Notions récentes sur l'épidémiologie et l'immunité dans la poliomyélite.**

17 h. 30 **Clôture de la réunion.**

Le professeur PENSO, de l'Institut Supérieur de la Santé de Rome, fera, le vendredi, à 21 heures, une conférence avec projections sur: **Attaque et démolition de la cellule bactérienne par les phages.**

Les conférences seront faites en français ou en anglais. Des résumés dans ces deux langues pourront etre remis aux auditeurs.

Une discussion suivra chaque exposé.

L'inscription au cycle de conférences est fixée à 15 francs suisses, payables à Lausanne.

Pour les inscriptions et pour tous renseignements, s'adresser au Pr. Hauduroy, 19, rue César Roux, Lausanne.

Millimol **BAL**/l, die 200fache äquivalente Menge nur zum Teil aufgehoben werden. — 5. Die Partialhemmung durch 0·05 Millimol **Phenyl-Hg-Azetat**/l war jedoch bereits durch 1 Millimol **BAL**/l, d. i. die 4fache äquivalente Menge, rückgängig zu machen.

Tabelle 5

Fungizide		BAL-Konzentrationen in Millimol je Liter (in Klammern)			
Zeichen	Millimol/l	Fung.-Kontr. (0)	B_1 (10)	B_2 (1)	B_3 (0·1)
SH-Kontr.	0	++++*)	++++	++++	++++
S_1	5	—	++[1])	—	—
S_2	1	—	++++	+++[1])	—
S_3	0·5	+++	+++[1])	++++	++++
S_4	0·1	++++	+++	++++	++++
Ph_1	0·1	—	+[2])	+[2])	—
Ph_2	0·05	+	+++[1])	++++	++++
Ph_3	0·01	++++	++++	++++	++++

Keimungskontrolle K_{Ca}
(Brandsporen direkt auf $Ca[NO_3]_2$-Lösung): ++++

*) Keimungskontrolle K_W
[1]) Wenig Sporidien.
[2]) Keine Sporidien.

Erklärung der Zeichen:

— keine Keimung
+ 0—5% Keimung
++ 5— 20% Keimung
+++ 20— 50% Keimung
++++ 50—100% Keimung

3. Ergebnisse der Versuche mit Kupfersulfat

Die mit **Kupfersulfat** als Fungizid und mit **Zystein, Thioglykolsäure** und **BAL** zur Ausschaltung der Wirkung unternommenen Versuche finden sich in Tabelle 6 zusammengestellt.

Besprechung der Ergebnisse: 1. Die Keimungs-Kontrollen K_W und K_{Ca} ergaben maximale Auskeimung. — 2. Aus den Fungizid-Kontrollen (**Kupfersulfat** ohne Thiolverbindungen) ergibt sich, daß $CuSO_4 . 5aq$ ab 1 Millimol/l die Keimung der Brandsporen vollständig, 0·1 Millimol/l aber nur partiell hemmt. — 3. Aus den SH-Kontrollen geht hervor, daß **Thioglykolsäure** in der höchsten Konzentration von 10 Millimol/l eine an und für sich vollständige Hemmung der Keimung be-

wirkt, daher in dieser Konzentration eine entgiftende Wirkung der genannten Thiolverbindung nicht erkannt werden kann. — 4. Eine Aufhebung der Giftwirkung durch **Zystein** und **Thioglykolsäure** gelang nur bei der niedrigsten Konzentration des $CuSO_4$, nämlich 0·1 Millimol/l, und zwar bereits durch 0·1 Millimol jeder der beiden Thiol-Verbindungen. — 5. BAL hingegen entgiftete auch noch 1 Millimol $CuSO_4$/l, und zwar durch 10 Millimol/l vollständig und durch 1 Millimol/l partiell. — 6. Vergleicht man die vorstehend besprochenen Resultate mit den bei den **Hg**-Verbindungen erzielten, so ergibt sich, daß die durch $CuSO_4$ bewirkte Hemmung durch Thiol-Verbindungen wesentlich schwieriger aufzuheben ist als bei den **Hg**-Salzen.

Tabelle 6

SH-Verbindungen		$CuSO_4.5aq$-Konzentration in Millimol je Liter (in Klammern)			
Zeichen	Millimol/l	SH-Kontr. (0)	Ku_1 (10)	Ku_2 (1)	Ku_3 (0·1)
Fung. Kontr.	0	++++*)	—	—	+
Z_1	10	++++	—	—	++++
Z_2	1	++++	—	—	++++
Z_3	0·1	++++	—	—	++++
Th_1	10	—	—	—	—
Th_2	1	++++	—	—	++++
Th_3	0·1	++++	—	—	++++
B_1	10	++++	—	++++	++++
B_2	1	++++	—	+	++++
B_3	0·1	++++	—	—	++++

Keimungskontrolle K_{Ca}
(Brandsporen direkt auf $Ca[NO_3]_2$-Lösung): ++++

*) Keimungskontrolle K_W

Erklärung der Zeichen:

— keine Keimung
+ 0—5% Keimung
++ 5— 20% Keimung
+++ 20— 50% Keimung
++++ 50—100% Keimung

4. Versuche über die Reversibilität der Giftwirkung

Um festzustellen, ob die Giftwirkung der Schwermetalle, vor allem der **Quecksilber**-Verbindungen, auf Brandsporen reversibel ist, d. h. ob nach bereits eingetretener Keimungshemmung, diese durch nachträglichen Zusatz von SH-Verbindungen wieder ganz oder teilweise aufge-

hoben werden kann, wurden sog. Zeitstufen-Versuche vorgenommen. Bei diesen erfolgte entweder a) die Zugabe der Thiol-Verbindung in abgestuften Zeitintervallen vom Ablauf der Beizzeit des Fungizids an gerechnet bei gleicher Einwirkungsdauer der Thiol-Verbindung oder es wurde b) die letztere variiert, hingegen das Zeitintervall zwischen Zusatz des Fungizids und der SH-Verbindung konstant gehalten. Bei diesen Versuchen wählten wir die Konzentrationen des Fungizids und der Thiolverbindungen derart, daß die ersteren für sich allein eine totale Keimungshemmung bewirkten, die jedoch bei gleichzeitigem Zusatz der Thiolverbindung vollständig aufgehoben wurde. Die Ergebnisse dieser Zeitstufen-Versuche, bei denen bloß **BAL** als die erfahrungsgemäß am stärksten wirkende SH-Verbindung zur Anwendung kam, bringen die Tabellen 7 und 8.

Tabelle 7

BAL	Millimol/l	Fungizid-Konzentrationen in Millimol je Liter (in Klammern)		
		BAL-Kontr. (0)	Sublimat (5)	Phenyl-Hg-Azetat (0·05)
Fung.-Kont.	0	++++*)	—	—
B_2	1	++++	++++	++++
Einwirkungsdauer 30 Minuten	Zusatz von BAL nach Ablauf nebenstehender Zeitintervalle: 5′		—	+
	10′		—	++
	30′		—	++
	60′		—	++
	120′		—	+
	240′		—	+
	24 h		—	+

Keimungskontrolle K_{Ca}
(Brandsporen direkt auf $Ca[NO_3]_2$-Lösung): ++++

*) Keimungskontrolle K_W

Erklärung der Zeichen:

— keine Keimung
+ 0—5% Keimung
++ 5— 20% Keimung
+++ 20— 50% Keimung
++++ 50—100% Keimung

Besprechung der Ergebnisse: 1. Die Keimungskontrollen K_W und K_{Ca} zeigten wieder maximale Auskeimung. — 2. Die angewandten Konzentrationen der Fungizide, nämlich 5 Millimol/l **Sublimat** und 0·05 Millimol/l **Phenyl-Hg-Azetat** hemmten die Brandsporen-Keimung vollständig. — 3. Die benutzte Thiol-Verbindung, nämlich 1 Millimol/l **BAL**, hob bei gleichzeitigem Zusatz mit dem Fungizid zur Beizlösung die

Keimungshemmung zur Gänze auf. — 4. Erfolgte die **BAL**-Einwirkung jedoch erst eine gewisse Zeitspanne nach Abschluß der Beizung, und zwar in gestaffelten Zeitintervallen, so war bei **Sublimat** selbst nach bloß 5 Minuten eine Rückgängigmachung der Hemmung nicht mehr zu erreichen. Bei **Phenyl-Hg-Azetat** hingegen ließ sich eine partielle Abschwächung der Hemmung selbst nach Ablauf von 60 Minuten noch erzielen, ja eine geringe Auskeimung von 0—5% trat sogar dann noch ein, wenn der Zusatz des **BAL** erst 24 Stunden nach der Beizung erfolgte.

Aus diesem Versuche scheint hervorzugehen, daß sich **Sublimat** und **Phenyl-Hg-Azetat** hinsichtlich der Reversibilität der Keimungshemmung verschieden verhalten. Da jedoch die mangelnde Wirkung des **BAL** beim **Sublimat** möglicherweise auf die relativ hohe Konzentration des letzteren, bzw. die zu niedrige des **BAL** zurückzuführen war, wurde im 8. Versuch der Unterschied zwischen den Konzentrationen des **Sublimats** und des **BAL** wesentlich erhöht und ferner auch eine Variierung der Einwirkungsdauer des **BAL** vorgenommen. Auch kam statt der üblichen Beizzeit von 30 Minuten eine solche von bloß einer Minute zur Anwendung.

Tabelle 8

Zusatz von BAL (1 Millimol/l)		Fungizide (Konzentrationsangaben in Millimol/l)	
Nach	Dauer der Einwirkung	Sublimat (0·5)	Phenyl-Hg-Azetat (0·05)
	1 Minute	—	++++
	60 Minuten	—	++++
60 Minuten	24 Stunden	—	++++
	3 Tage	—	++++
	6 Tage	—	++++
24 Stunden	1 Minute	—	++
3 Tagen	1 Minute	—	+
6 Tagen	1 Minute	—	—
Ohne BAL-Zusatz [Fungizid-Kontrolle]		—	—

Keimungskontrolle K_{Ca}
(Brandsporen direkt auf $Ca[NO_3]_2$-Lösung): ++++

Keimungskontrolle K_W
(Brandsporen zunächst mit dest. Wasser behandelt): ++++

Erklärung der Zeichen:

— keine Keimung
+ 0—5% Keimung
++ 5— 20% Keimung
+++ 20— 50% Keimung
++++ 50—100% Keimung

Besprechung der Ergebnisse: 1. Die Keimungs-Kontrollen K_W und K_{Ca} zeigten wieder so wie bei den früheren Versuchen maximale Auskeimung. — 2. Die angewandten Fungizide, nämlich 0·3 Millimol **Sublimat** je Liter und 0·05 Millimol **Phenyl-Hg-Azetat** je Liter, hemmten selbst bei der kurzen Beizzeit von bloß einer Minute die Keimung der Brandsporen vollständig. — 3. Die Hemmung durch **Sublimat** war in Übereinstimmung mit dem Ergebnis des vorangegangenen Versuches (Tabelle 7) unter keinen Umständen mehr rückgängig zu machen, während sich die mit **Phenyl-Hg-Azetat** verursachte durch den nach 60 Minuten erfolgten Zusatz von **BAL** bei jeder Einwirkungsdauer des letzteren vollständig aufheben ließ; wenn das **BAL** aber erst nach 6 Tagen zugesetzt wurde, war die Keimhemmung nicht mehr rückgängig zu machen.

C. Nachweis und Bestimmung von Thiol-Gruppen in den Brandsporen

1. Übersicht über die Methoden zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Thiol-Gruppen

a) Jodometrische Methoden

Da Jod die Thiole zu Disulfiden oxydiert (vgl. I. Teil Janke und Beran, 1952), kann man aus dem Jodverbrauch auf die Menge vorhandener Thiol-Verbindungen schließen, doch ist hierbei Voraussetzung, daß eine Weiteroxydation der Disulfide verhindert wird.

Damit Letzteres zutrifft, muß in saurer Lösung bei niederer Temperatur gearbeitet und die Titration in Gegenwart von Kaliumjodid vorgenommen werden.

Nun gibt es aber eine Reihe anderer natürlich vorkommender reduzierender Substanzen, wie vor allem Askorbinsäure und die Reduktone, die ebenfalls einen Jodverbrauch aufweisen. Um letzteren zu ermitteln, hat Sabalitschka (1936) bei Bestimmung des Glutathions in Hefe einerseits die Gesamtmenge des Jodverbrauches festgestellt und andererseits jenen Teil des letzteren, der nach Blockierung der SH-Gruppen mittels Formalins noch übrigbleibt, demnach auf andere jodbindende Substanzen entfällt. Ferner hat genannter Forscher auch die Menge an **Glutathion** in der — GS.SG — Form bestimmt, und zwar durch Überführung derselben mittels naszierenden Wasserstoffs in die GSH-Form mit anschließender Jod-Titration.

Eine jodometrische Mikrobestimmung von **Zystein** in essigsaurer Lösung kann bei Kuhn, Birkhofer u. Quackenbush (1939) eingesehen werden.

b) Die Nitroprussid-Methode

α) Normale Ausführung

Frisch bereitete Lösungen von Nitroprussidnatrium [$Na_2Fe(CN)_5NO$] geben mit Thiolen nach Zusatz von Alkali eine Rotviolettfärbung, die

aber bald verschwindet. Die Menge des Alkalizusatzes richtet sich nach der SH-Verbindung: So soll für den Nachweis des **Zysteins** der optimale pH-Wert bei 12 liegen. Die Empfindlichkeitsgrenze dieser Reaktion wird mit 1 : 30.000 angegeben und läßt sich durch Zusatz von Ammonium- oder Zinksulfat bis auf das 10fache erhöhen.

β) Modifikation mit sodaalkalischer Natriumzyanid-Lösung

Für Zwecke des Nachweises von **Glutathion** in tierischen Gewebshomogenisaten haben Grunert u. Phillips (1951) die Nitroprussid-Methode insofern modifiziert, als sie an Stelle des Alkalis eine sodaalkalische Na-Zyanid-Lösung verwenden. Hiedurch wird eine teilweise Umwandlung der SH- in die -S.S-Gruppe vermieden, wie dies bei der normalen Ausführung der Nitroprussid-Methode meist der Fall ist; jedoch können auch vorhandene —S.S— Verbindungen zu den Thiol-Verbindungen hydriert werden, so daß man aus dem positiven Ausfall dieser Reaktion nur auf die Gegenwart eines Thiol-Disulfid-Systems schließen kann.

Diese Zyanid-Nitroprussid-Methode hat in unseren Versuchen eine Empfindlichkeitsgrenze von 1 : 200.000 ergeben.

c) Die Phosphorwolframsäure-Methode nach Folin und Trimble (1924)

Das Prinzip der Phosphorwolframsäure-Methode, die ursprünglich zum Harnsäure-Nachweis diente, besteht darin, daß SH-Verbindungen in alkalischer Lösung mit Phosphorwolframsäure eine Blaufärbung geben. Die zur Bereitung des Reagens verwendete Phosphorwolframsäure muß frei von Molybdän sein, was sich nach dem Verfahren von Folin und Marenzi (1929) erreichen läßt.

Die ungenügende Spezifität des Phosphorwolframsäure-Testes wurde durch Lugg (1932₁), dem auch Miescher (1950) folgte, wesentlich verbessert durch Kombination mit der stark spezifischen Reaktion der SH-Gruppen mit Sublimat unter Bildung von Merkaptiden, worüber man den I. Teil dieser Arbeit (Janke und Beran, 1952) vergleiche. Es werden zwei Messungen vorgenommen: 1) Probe + Reagens und 2) Probe + $HgCl_2$ + Reagens; falls im letzteren Fall eine Blaufärbung entsteht, so rührt sie bestimmt nicht von SH-Gruppen her. Wird nun die Tiefe beider Färbungen in einem Absolut-Kolorimeter quantitativ ermittelt, so erhält man aus der Differenz A-B die durch SH-Gruppen bewirkte Blaufärbung.

Eine weitere Verbesserung, die Lugg (1932₂) einführte, bestand in der Anwendung eines sauren Milieus (pH = 5·7) und dem Zusatz von Na_2SO_3-Lösung, wodurch sich die Möglichkeit ergab, SH- und —S.S— Gruppen nebeneinander zu bestimmen.

Schöberl u. Rambacher (1938) benutzten ebenfalls die Folin Reagens- Na_2SO_3-Methode zur Bestimmung von **Zystin,** wobei sie einen Azetat-Puffer von pH = 5·2 verwendeten. Sind Schwermetalle oder

stark reduzierende Substanzen, wie z. B. Askorbinsäure, zugegen, so ist die Verfahrensweise von Kassel u. Brand (1938) anzuwenden.

Näheres über diese Reaktion und deren Mechanismus kann bei Shinohara (1936), bei Schöberl und Mitarbeitern [mit Ludwig (1937). mit Krumey (1938), mit Rambacher (1938)] sowie bei Kassel und Brand (1938[1], 1938[2]) in Erfahrung gebracht werden.

Die Empfindlichkeit des SH-Gruppen-Nachweises mittels des Folinschen Reagens beträgt nach unseren Versuchen mit **Zystein** etwa 1 : 500.000, liegt also mehr als doppelt so hoch als jene nach der modifizierten Nitroprussid-Methode.

d) Die kolorimetrische Methode nach Sullivan (1926) [vgl. auch Lugg (1933) sowie Sullivan und Heß (1936, 1937)]

Zystein liefert mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonsaurem Na und Zusatz von Na_2SO_3 eine Färbung, die nach dem Alkalischmachen mit 5n-NaOH und Zugabe von Hyposulfit ($Na_2S_2O_4$) kolorimetrisch oder photometrisch gemessen werden kann. Vorhandenes **Zystin** wird vorher mittels 5%iger alkalischer NaCN-Lösung zu **Zystein** reduziert. Sofern man diese Aminosäure im Eiweiß bestimmt, kann durch Zugabe von $TiCl_3$ zur Hydrolyseflüssigkeit die Umwandlung von **Zystin** in **Zystein** bereits bei der Hydrolyse bewirkt werden.

e) Die Reaktion von Fleming (1930)

Zystein — nicht aber reduziertes **Glutathion** — ergibt in wäßriger Lösung, wenn man zu 1 ml derselben (enthaltend etwa 4.10^{-4} Zystein) 0·5 ml einer 2%igen Dimethyl-p-phenylendiamin-hydro-chlorid-Lösung sowie einen Tropfen einer 5%igen Eisenchlorid-Lösung hinzufügt und bis zum Kochen erhitzt, eine Blaufärbung.

Fujita und Numata (1939) und Vassel (1941) haben diese Reaktion auch zur quantitativen Bestimmung benutzt.

f) Die Farbreaktion von Binkley [vgl. Nakamura und Binkley (1948)]

Diese Reaktion beruht darauf, daß **Zystein** in schwefelsaurer Lösung mit Alkaloiden, wie z. B. Brucin (1%ig) bei Gegenwart von Glykokoll (10%ig) und K-Persulfat (1%ig) im Wasserbad bei 30° C innerhalb 30 Minuten eine blaue Färbung ergibt. Von der Brucin-Lösung kommen 2 ml, von allen übrigen Reagentien je 0·5 ml zur Anwendung, und zwar auf 5 ml Probe, die 0·5-5 Millionstel-Val SH-Gruppen enthält. Diese Reaktion läßt sich auch für quantitative Zwecke verwerten, indem man die Extinktionsänderung ermittelt, die bei der Wellenlänge 660 mμ maximal ist.

g) Die Reaktion mittels des DDD-Reagens

Zur histochemischen Darstellung von SH-Gruppen, die an Protein gebunden sind, entwickelten Barrnett und Seligman (1952) ein

neues Reagens (DDD), das 2,2'-Dihydroxy-6,6'-dinaphthyl-disulfid, dessen Disulfid-Bindung sich mit SH-Gruppen umsetzt und dessen Naphthol-Gruppen eine Kupplung unter Bildung eines Azofarbstoffes gestatten. DDD kann von der Firma Schwartz Laboratories, Inc., New-York City, bezogen werden.

h) Methoden unter Verwendung von Chlormerkuri-Verbindungen

α) Direkte Titration mit p-Chlormerkuribenzoat in Gegenwart von Guanidinhydrochlorid mit Nitroprussidnatrium als Indikator (Anson 1940/41).

β) Kolorimetrische Methode mit 1-(4-Chlormerkuriphenyl-azo)-naphthol-2 nach Flesch und Kun 1950).

Beim Schütteln einer wäßrigen Lösung oder Suspension von SH-Verbindungen mit einer Lösung von 1-(4-Chlormerkuriphenyl-azo)-naphthol in Amylazetat entsteht eine rote Fällung, wobei die Konzentration des gelösten Reagens entsprechend der Menge vorhandener SH-Gruppen abnimmt. Man kann daher aus der mittels eines Absolut-Kolorimeters ermittelten Extinktionsänderung (Maximum bei 520 mμ) einen Rückschluß auf die Zahl der Thiolgruppen ziehen.

i) Methoden unter Verwendung von Jodazetamid

Jodazetamid reagiert mit Thiol-Gruppen unter Dehydrierung derselben zur -S.S-Gruppe und Bildung von Azetamid und Jodwasserstoff gemäß der Gleichung $2\text{-HS} + CH_3.CO.NHJ = \text{-S.S-} + CH_3.CONH_2 + HJ$.

Diese Reaktion kann nun auf verschiedene Weise zur Bestimmung der SH-Gruppen Verwendung finden.

α) Titration mit Jodazetamid unter Bestimmung der gebildeten HJ.

β) Bestimmung der Amid-Gruppen vor und nach Behandlung mit Jodazetamid (Fraenkel-Conrat und Olcott, 1948).

γ) Bestimmung nach Sullivan (vgl. unter d) vor und nach Behandlung mit Jodazetamid (Sullivan, Heß und Howard, 1942).

Bei den unter β und γ genannten Methoden ist die Differenz der Bestimmungen vor und nach Behandlung mit Jodazetamid äquivalent der Zahl der vorhandenen Thiolgruppen.

j) Amperometrische und polarographische Methoden

Sulfhydril-Gruppen lassen sich mit ammoniakalischer $AgNO_3$-Lösung amperometrisch bestimmen, wie Benesch und Benesch (1948) gezeigt haben. Kolthoff und Stricks (1950) verwenden eine 0·001-0·005 mol. $AgNO_3$-Lösung in gepuffertem Ammoniak (0·1 mol. NH_4OH + 0·2-0·3 mol. NH_4NO_3) unter Benutzung der rotierenden Pt-Elektrode. Wegen der leichten Veränderlichkeit des Zystein-Hydro-

chlorids bedienen sich Weißmann, Schoenbach u. Armistead (1950) an dessen Stelle des n-Dodezylmerkaptids als Standard. Nach einem indirekten Verfahren arbeitet Cecil (1950), indem der Überschuß an freien Ag^{+}-Ionen mit KBr potentiometrisch zurücktitriert wird.

Auch Kolthoff und Harris (1949, 1950) haben ein amperometrisches Verfahren zur Bestimmung von SH-Gruppen beschrieben, das durch Rosenberg, Perrone und Kirk (1950) modifiziert wurde, wobei an Stelle der rotierenden Pt-(Rühr-)Elektrode eine vibrierende Pt-Elektrode Verwendung fand.

Eine polarographische Methode wurde von Brdička (1934) entwickelt, über die man auch Stern, Beach und Macy (1939) vergleiche und deren sich auch Bonting (1950) bediente, wobei die Bestimmung der SH-Gruppen so wie oben unter i (β, γ) vor und nach der Behandlung mit Jodessigsäure erfolgte.

2. Eigene Versuche zum Nachweis von Thiolgruppen in Brandsporen

Von den im vorhergegangenen Abschnitt erwähnten Methoden kamen aus äußeren Gründen in der vorliegenden Arbeit bloß das jodometrische, das Nitroprussid- und das Folin'sche Verfahren zur Anwendung.

a) Gewinnung der Probelösungen

Die für die Versuche verwendeten Brandsporen stammten aus den Jahren 1949 und 1950.

Die Gewinnung der Probelösungen erfolgte entweder durch bloßes Ausziehen der Brandsporen mit wäßrigen Lösungen oder aber bei gleichzeitigem Verreiben mit Seesand.

α) Bloßes Ausziehen der Brandsporen mit wäßrigen Lösungen.

Je 5 g Brandsporen der Ernten 1949, bzw. 1950 wurden entweder mit 2n HCL + n - Cl_3COOH oder mit 22%iger Sulfosalicylsäure ausgezogen, worauf eine Filtration der Lösung durch ein Jenaer Glassinter-Filter 4 und ein Auffüllen in einem Meßkölbchen auf 20 ml erfolgte.

β) Verreiben der Brandsporen mit Sand.

Die gleiche Menge Brandsporen wie unter α) wurde in einer Achatreibschale mit denselben Flüssigkeiten wie oben unter Hinzufügung von 5 g gewaschenen und geglühten Seesandes verrieben und das Gemisch weiter wie unter α) behandelt.

b) Die jodometrische Bestimmung

Von der nach a) erhaltenen Lösung wurden jeweils 5 ml zur Untersuchung verwendet, und zwar in einem kleinen Glasstöpselfläschchen mit 5 ml n/100-KJO_3-Lösung und 1 ml KJ-Lösung (10%ig) sowie 0·4 ml H_2SO_4 (40%ig) versetzt. Die Zurücktitrierung des ausgeschiedenen Jods erfolgte mit n/50-$Na_2S_2O_3$-Lösung, wobei die Zugabe einer 1%igen Lösung von löslicher Stärke in gesättigter NaCl-Lösung erst in einem Zeitpunkt

erfolgte, in dem die zu titrierende Probelösung nur mehr eine schwach gelbliche Färbung aufwies. Der erhaltene Wert, der sich auf 5 ml Probelösung bezog, wurde zunächst auf 20 ml und schließlich auf 100 g Brandsporen umgerechnet; eine Division durch 100 ergab dann Millival-Prozente.

Wiederholte Bestimmungen unter Verwendung verschiedener Brandsporenmuster aus 1950 ergaben Reduktionswerte, die 3·6 bis 5·9 Millival% SH, bzw. einem Mittelwert von 4·8 Millival% SH entsprachen.

Mit Brandsporenmustern aus dem Jahre 1949 wurden vergleichende Untersuchungen mit bloßer Auslaugung und mit Sandverreibung durchgeführt. Der im ersteren Falle erhaltene Jod-Verbrauch entsprach 2·6 Millival% SH, während bei Verreibung mit Sand sich der entsprechende Wert auf 2·8 Millival% SH belief.

Beim Verreiben mit Sand wurden demnach etwas höhere Werte erhalten, was ja zu erwarten war. Daß die Jodbindung der älteren Brandsporen geringer ist als jene der jüngeren, ist auch ohne weiteres verständlich, da sich beim Lagern offenbar langsame Oxydationsprozesse abspielen.

Versuche durch Bindung der SH-Gruppe an Formaldehyd nach Sabalitschka (1936) die Menge anderer eventuell vorhandener reduzierender Substanzen zu ermitteln, führten zu keinem eindeutigen Ergebnis. Die vom gleichen Autor beim Glutathion geübte Bestimmung der -S.S-Gruppe durch Überführung derselben mittels naszierenden Wasserstoffes, der durch Zugabe von Zinkspänen und 40%iger H_2SO_4 entwickelt wurde, in SH-Gruppen und Ermittlung der Gesamtmenge derselben durch Jodtitration ergab bei den Brandsporen im wesentlichen das gleiche Resultat wie ohne Reduktion, so daß offenbar merkliche Mengen an -S.S-Verbindungen nicht vorhanden sein dürften.

c) Prüfung auf SH-Gruppen nach dem Nitroprussid-Verfahren

Die jodometrische Bestimmung hatte also wohl eine Jodbindung, bzw. einen Reduktionswert ergeben, daß hiefür aber SH-Gruppen verantwortlich waren, konnte nicht erwiesen werden. Wir versuchten daher, für die Identifizierung der letzteren die Nitroprussidmethode heranzuziehen. Mit der normalen Ausführungsform derselben [vgl. oben unter C, 1, b, α], also mit Nitroprussidnatrium in alkalischer Lösung, konnte jedoch kein eindeutiges Ergebnis erzielt werden, und zwar auch dann nicht, wenn ein Zusatz von Ammonium- oder Zinksulfat erfolgte.

Wohl aber trat eine deutlich positive Reaktion bei Anwendung der Modifikation von Grunert und Phillips (1951) [vgl. oben unter C 1, b, β], also bei Benutzung einer sodaalkalischen Natriumzyanid-Lösung, ein, und zwar sowohl bei einer bloßen Ausschüttelung der intakten Brandsporen als auch beim Verreiben derselben mit Seesand. In beiden Fällen wurde nach der Filtration ein schwach gelblicher Extrakt er-

halten, der bei der Sandverreibung etwas dunkler getönt war. Zu etwa 8 ml dieser Lösung erfolgte ein Zusatz von 1 ml einer 0·067 m (= 20 mg/ml) - $Na_2Fe(CN)_5NO$-Lösung und sofort ein solcher von 1 ml einer sodaalkalischen Natriumzyanid-Lösung (1·5 m - Na_2CO_3 + 0·067 m - Na(CN). In allen untersuchten Fällen ergab sich eine ausgesprochene Rotviolettfärbung, die für das Vorhandensein von **SH-Systemen** in den Brandsporen spricht. Wohl muß es sich nicht ausschließlich um Thiolgruppen handeln, da auch die Disulfide infolge Reduktion durch das Kaliumzyanid zu SH-Gruppen diese Reaktion geben. Aus diesem Grunde und wegen der höheren Empfindlichkeit der Folin'schen Reaktion trachteten wir, die letztere für die quantitative Bestimmung der SH-Gruppen heranzuziehen.

d) Nachweis und quantitative Bestimmung der SH-Gruppen mittels des Phosphorwolframsäure-Testes nach Folin

Zur Ausführung des qualitativen Nachweises der SH-Gruppen erhielten 5 ml des oben unter C 2a gewonnenen sauren Auszuges der Brandsporen einen Zusatz von 5 ml m/100-$HgCl_2$, 2 ml Folin'sches Reagens und soviel ml 30%iger Kalilauge, daß ein pH-Wert von 6·47 erreicht wurde, sowie von 3·6 ml Zitratpuffer (pH = 6·47). In einem entsprechenden Parallel-Ansatz wurde das $HgCl_2$ durch die gleiche Menge destillierten Wassers ersetzt. Ein Vergleich der beiden Ansätze ergab für jenen ohne $HgCl_2$ einen wesentlich dunkleren blauen Farbton, woraus hervorgeht, daß durch das Quecksilber Thiol-Gruppen abgebunden worden sind.

Bei der quantitativen Bestimmung war der Vorgang ein gleicher, jedoch erfolgte die Beobachtung in Küvetten mit aufgeschmolzenem Boden, die das Jenaer Glaswerk Schott u. Gen. seinerzeit für den einen von uns (Janke) angefertigt hatte. Der Vergleich wurde indirekt geführt, indem jeder der beiden Ansätze — also jener mit und jener ohne $HgCl_2$ — gegen die einzelnen Glieder einer Verdünnungsreihe von Zystein (val/100, val/200, val/400, val/800), welche die gleichen Zusätze wie die Probe ohne $HgCl_2$ erhalten hatte, ausgetestet wurden. Zwecks Ausschaltung der Eigenfarbe des Brandsporenauszugs kam das Walpolesche Prinzip zur Anwendung, d. h. der Zysteinlösung wurde originaler Brandsporenauszug vorgeschaltet und der Probe destilliertes Wasser.

Der Unterschied im Farbton entsprach bei den Brandsporen der Ernte 1950 im Mittel einem SH-Gehalt von 0·1 Millival%. Vergleicht man diesen Wert mit jenem, der auf jodometrischem Wege erhalten wurde, nämlich 4·8 Millival%, so ergibt sich eine ganz bedeutende Differenz. Selbst unter der Annahme, daß bei der Jodtitration die Azidität zu gering gewesen sein sollte und daher gemäß Kuhn, Birkhofer und Quackenbush (1939) zu hohe Werte erhalten wurden — was jedoch

nicht sehr wahrscheinlich ist — erscheint die mögliche Fehlergrenze um etwa das Zwanzigfache überschritten. Es geht demnach aus der Untersuchung klar hervor, daß sich in den Brandsporen in relativ bedeutender Menge Stoffe finden, die wohl Jod verbrauchen, aber keine SH-Gruppen enthalten, so daß für die Ermittlung der letzteren die jodometrischen Methoden ungeeignet sind.

Die quantitative Bestimmung der Thiol-Gruppen soll später mit verfeinerter Methodik fortgeführt werden.

Zusammenfassung

Die durch **Sublimat, Phenyl-Hg-Azetat** und **Kupfervitriol** bewirkte Hemmung der Keimung von Sporen des **Weizensteinbrandes**, Tilletia tritici (Bjerk.) Winter konnte durch gleichzeitige Zugabe von **Zystein** oder **Thioglykolsäure** oder **BAL** zur Beizflüssigkeit ganz oder teilweise ausgeschaltet werden. Zur Aufhebung einer Totalhemmung durch die genannten Fungizide mußte ein Vielfaches der äquivalenten Menge an Thiol-Verbindungen zugesetzt werden, während zur Unschädlichmachung einer partiellen Hemmung vom **Zystein** bereits die äquivalente Menge genügte; von **Thioglykolsäure** und **BAL** waren hiezu höhere Konzentrationen nötig. Die Ausschaltung der Hemmwirkung gelingt bei der durch **Sublimat** verursachten leichter als bei der durch **Phenyl-Hg-Azetat** bewirkten; besonders deutlich tritt dieser Unterschied bei **BAL** in Erscheinung, was offenbar darin seinen Grund hat, daß **Sublimat** mit **BAL** weniger dissoziable **Merkaptide** als mit den Protein-SH-Gruppen bildet. Die durch **Kupfersulfat** hervorgerufene Keimungshemmung läßt sich durch SH-Gruppen im allgemeinen schwieriger verhindern als jene durch Hg-Verbindungen hervorgerufene.

Um eine eventuelle Reversibilität der Schwermetallbindung an die Thiol-Gruppen der Brandpilze zu erkennen, wurden sogenannte Zeitstufen-Versuche vorgenommen, bei denen in gewissen Zeitintervallen nach Abschluß der Beizung die Zugabe von **BAL** erfolgte. Hiebei ergaben **Sublimat** und **Phenyl-Hg-Azetat** ein unterschiedliches Verhalten, indem die durch das erstere bewirkte Hemmung bereits nach fünf Minuten selbst nicht mehr teilweise rückgängig gemacht werden konnte, während dies beim **Phenyl-Hg-Azetat** noch nach einer Stunde in mäßigem Grade und selbst nach 24 Stunden noch in geringem Maße der Fall war.

Hatten schon die vorstehend angeführten Ergebnisse zu der begründeten Vermutung geführt, daß die Bindung der Schwermetalle in den Brandsporen an SH-Gruppen derselben erfolgt, so ließen sich solche in denselben mittels des Folinschen Reagenses auch tatsächlich nachweisen, und zwar in etwa einem Jahr alten Brandsporen in einer Menge von 0·1 Millival%. Jodometrisch wurden wesentlich höhere Werte erhalten, was auf den Umstand hindeutet, daß sich in den Sporen außer den Thiol-Gruppen auch noch andere jodbindende Substanzen vorfinden.

Summary

For studying the mode of action of fungicides with heavy metal compounds. the thiol-group (SH) is remarkable because heavy metals are able to react with thiol-compounds (see „Pflanzenschutzberichte" VIII, 1952, 161—178). It could be pointed out that the fungistatic effect of **mercuric chloride, phenyl mercury acetate** and **copper sulphate** on spores of Tilletia tritici can be eliminated by **cysteine, thioglycolic acid** and **British-Anti-Levisite** (= 2,3-dimercaptopropanol = BAL). The total fungistatic effect of the mentioned fungicides can only be eliminated by multiples of equivalents of thiol-compounds. In order to eliminate the incomplete fungistatic effect one equivalent of **cysteine** is sufficient, but higher concentrations of **thioglycolic acid** and **BAL** are necessary. The elimination of fungistatic effect of **phenyl mercuric acetate** is more difficult than that of **mercuric chloride.** This difference is especially evident when **BAL** is used as thiol-compound. The reason for this fact may be that the mercaptides produced by the reaction of **BAL** with **mercuric chloride** are less dissociated than those formed by the reaction of **BAL** with protein-SH-groups.

It is more difficult to eliminate the fungistatic effect of **copper sulfate** than that of the mercurials.

Besides this the experiments showed that the fungistatic effect is reversible during a certain period. The effect of **mercuric chloride** is already irreversible within 5 minutes, whilst the **phenyl-mercuric-acetate-effect** remains partially reversible for 1 hour and to a small extent even for 24 hours.

These results allow us to suppose that the heavy metals react with the **SH**-groups in the spores of Tilletia tritici.

In fact it was possible to show by the „Folin" test that 1 year's old Tilletia-spores contain 0,1 mval% SH.

Literatur-Verzeichnis

Anson, M. L. (1940/41): The sulphydryl groups of egg albumin. Journ. gen. Physiol. 24, 399.

Barnett, R. J. and Seligman, A. M. (1952): Histochemical demonstration of protein-bound sulfhydryl groups. Science 116 (3015), 323—327.

Benesch, R. and Benesch, R. E. (1948): Amperometric titrations of sulfhydryl groups in amino acids and proteins. Arch. Biochem. 19. 35—45.

Bodnár, J. und Terényi, A. (1930): Biochemie der Brandkrankheiten der Getreidearten. II. Mitteil.: Biophysik. und biochem. Untersuchungen über die Kupferadsorption der Weizensteinbrandsporen (Tilletia tritici [Bjerk.] Winter). Hoppe Seyler's Ztschr. physiol. Chem. 186, 157—182.

Bonting, S. L. jr. (1950): Cysteine, cystine and methionine in the skin of young and adult rats. Biochemica et biophysica acta 6, 183—186.

Brdička, R. (1934): Polarographische Mikrobestimmung von Cystin und Cystein in Hydrolysaten von einigen Proteinen. Mikrochemie 15 (N. F. 9), 167—180.

Cecil, R. (1950): Quantitative reactions of thiols and disulfides with silver nitrate. Biochem. Jour. 47, 572—584.

Ciferri, R., Baldacci, E. e Borzini, G. (1947): Interazioni biologiche tra derivati del mercurio e cisteina. Atti Ser. 5, Vol. III., 238—242.

Fleming, R. (1930): A sensitive reaction for cysteine. Biochem. Journ. 24, 965—966.

Flesch, P. and Kun, E. (1950): A colorimetric method for determination of sulfhydryl groups in tissue homogenates by 1-(4-Chloromercuri-phenylazo)-naphthol-2. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 74, 249—251.

Folin, O. and Marenzi, A. D. (1929): The preparation of uric acid reagent completely free from phenol reagent. Jour. Biol. Chem. 83, 109—115.

Folin, O. and Trimble, H. (1924): Improvements in the quality and method of preparing the uric acid reagent. Jour. Biol. Chem. 60, 473—479.

Fraenkel-Conrat, H. and Olcott, H. S. (1948): The reaction of formaldehyde with proteins. V. Cross-linking between amino and primary amide or guanidyl groups. Jour. Amer. Chem. Soc. 70, 2673—2684.

Fraenkel-Conrat, J., Cook, B. B. and Morgan, A. F. (1952): The determination of certain properties of β-lactoglobulin and its lactose derivatives. Arch. Biochem. Biophys. 35, 157—170.

Fujita, A. und Numata, I. (1938/39): Über die kolorimetrische Bestimmung von Cystein und Cystin. Biochem. Ztschr. 300, 264.

Grunert, R. R. and Phillips, P. H. (1951): A modification of the nitroprusside method of analysis for glutathione. Arch. Biochem. 30, 217—225.

Janke, A. und Beran, F. (1932): Über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Pilze. I. Die Bedeutung der Thiol-Verbindungen für die lebende Zelle und deren Beeinflussung durch keimschädigende Mittel. Pflanzenschutz-Berichte VIII, 162—178.

Kassell, B. and Brand, E. (1938₁): The photometric determination of cystine, cysteine, ascorbic acid and related compounds with phosphotungstic acid. Jour. biol. Chem. 125, 115—129.

Kassell, B. and Brand, E. (1938₂): The rate of reaction of sulfhydryl and disulfide compounds with phosphotungstic acid and with sulfite. Jour. biol. Chem. 125, 131—144.

Kolthoff, I. M. and Harris, W. E. (1946): Amperometric titration of mercaptans with silver nitrate. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 18, 161—162.

Kolthoff, I. M. and Harris, W. E. (1950): Amperometric determination of primary and tertiary mercaptans in their mixtures. Analyt. Chem. 21, 963—965; 22, 1186—1187.

Kolthoff, I. M. and Stricks, W. (1950): Argentometric amperometric titration of cysteine and cystine. Jour. Amer. chem. Soc. 72, 1952—1958.

Kuhn, R., Birkofer, L. und Quackenbush, F. W. (1939): Jodometrische Titration von SH-Gruppen; Mikromethode zur Bestimmung von Cystein und Methionin in Proteinen. Ber. Dtsch. chem. Ges. 72, 407—416.

Lugg, J. W. H. (1931₁): The application of phospho-18-tungstic acid (Folins-reagent) to the colorimetric determination of cysteine, cystine and related substances. I. The reduction of phospho-18-tungstic acid by different substances. Biochem. Journ. 26, 2144—2159.

Lugg, J. W. H. (1931₂): The application of phospho-18-tungstic acid (Folins-reagent) to the colorimetric determination of cysteine, cystine and related substances. II. The determination of sulphhydryl compounds and disulphides already existing in solution. Biochem. Journ. 26, 2160—2165.

Lugg, J. W. H. (1933): Sullivan's reaction for the quantitative determination of cysteine and cystine. Biochem. Jour. 27, 668—673.

Mc. Callan, S. E. A. (1949): The nature of the fungicidal action of copper and sulfur. Botanic. Review 15, 629—643.

Miescher, G. (1950): Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf Solanum lycopersicum L. Diss. Dr. rer. nat. T. H. Zürich (Langensalza).

Nakamura, K. and Binkley, F. (1948): Colorimetric estimation of cysteine. Jour. biol. Chem. 173, 407—410.

Parker-Rhodes, A. F. (1941): Studies on the mechanism of fungicidal action. I. Preliminary investigation of Ni, Cu, Zn, Ag und Hg. Ann. appl. Biology 28, 389—405.

Parker-Rhodes, A. F. (1942₁): Studies on the mechanism of fungicidal action. II. Elements of the theory of variability. Ann. appl. Biology 29, 126—135.

Parker-Rhodes, A. F. (1942₂): Studies on the mechanism of fungicidal action. IV. Mercury. Ann. appl. Biology 29, 404—411.

Pichler, F. und Wöber, A. (1922): Biologische Studien über die Adsorption aus verschiedenen Metallsalzlösungen. Biochem. Ztschr. 132, 420—438.

Rosenberg, S., Perrone, J. C. and Kirk, P. L. (1950): Amperometric titration of sulfhydril groups. Microgram analysis. Analyt. Chemistry 22, 1186—1187.

Sabalitschka, Th. (1936): Bestimmung des Glutathiongehaltes medizinisch angewandter Trockenhefen. Mikrochemie. Festschrift f. H. Molisch. 387—392.

Schöberl, A. und Krumey, F. (1938): Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen in organischen Verbindungen. Ber. Dtsch. chem. Ges. 71, 2361—2371.

Schöberl, A. und Ludwig, E. (1937): Die Aufspaltung der Disulfidbindung mit Natriumsulfit und Kaliumcyanid und über die colorimetrische Bestimmung von Sulfhydryl-Verbindungen und Disulfiden. Ber. Dtsch. chem. Ges. 70, 1422—1432.

Schöberl, A. und Rambacher, P. (1938): Über die kolorimetrische Bestimmung von Cystein und Cystin mit Phosphorwolframsäure. Biochem. Ztschr. 295, 377.

Shinohara, K. (1936): The determination of thiol and disulfide compounds. with special reference to cysteine and cystine. Jour. Biol. Chem. 112, 709—721.

Stern, A., Beach, E. F. and Macy, I. G. (1939): Polarographic microdetermination of cystine in protein hydrolysates. Jour. Biol. Chem. 130, 733—740.

Sullivan, M. X. (1926): Differentiating reactions for cysteine, cystine and glutathione. Jour. Biol. Chem. 67, xi.

Sullivan, M. X. and Hess, W. C. (1936): The determination of cystine in urine. Jour. Biol. Chem. 116, 221—232.

Sullivan, M. X. and Hess, W. C. (1937): Improvements in methods of hydrolysis of protein: Shortening the time for estimating cystine. Jour. Biol. Chem. 117, 423—428.

Sullivan, M. X., Hess, W. C. and Howard, H. W. (1942): The quantitative estimation of both cystine and cysteine in mixtures. Jour. Biol. Chem. 145, 621—624.

Vassel, B. (1941): A colorimetric micromethod for the estimation of cystine and cysteine. Jour. Biol. Chem. 140, 323—336.

Weissman, N., Schoenbach, E. B. and Armistead, E. B. (1950): The determination of sulfhydryl groups in serum. I. Methods and results on normal sera. Jour. Biol. Chem. 187, 153—165.

Zima, O., Ritsert, K. und Moll, Th. (1941): Über das Aneurindisulfid. Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 267, 210—227.

(Aus der Bundesanstalt für Pflanzenschutz und der Bundesanstalt für Pflanzenbau und Samenprüfung, Wien)*)

Untersuchungen über die Schadensbedeutung der Vergilbungskrankheit der Zuckerrübe in Österreich

Von

Hans Wenzl und Hans Fuchs

Über die schädigende Auswirkung der Vergilbungskrankheit der Rübe liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor (Björling 1949, Hansen 1950, Hull 1951, Ernould 1951, Hartsuijker 1951, Heiling und Steudel 1952 und Steudel 1953). Nach englischen Erfahrungen wird je Woche vom Erscheinen des Krankheitsbildes bis Mitte Oktober mit einem Zuckerertrags-Verlust von 4 bis 5% gerechnet. Die in anderen Ländern festgestellte Ertragsminderung ist vielfach etwas geringer. Am stärksten wirkt sich der Virusbefall erfahrungsgemäß im Rübengewicht aus, weniger im Blattertrag und im Zuckergehalt.

Die folgenden Ergebnisse über die Schadwirkung der Vergilbungskrankheit der Zuckerrübe in den österreichischen Rübengebieten, die in stichprobenweisen Untersuchungen erzielt wurden, zeigen Verluste, die durchaus in dem zu erwartenden Bereich liegen.

Im allgemeinen wurden 100 gesunde und 100 vergilbungskranke Rüben aus jedem der wahllos herausgegriffenen Bestände untersucht. Um Bodeneinflüsse tunlichst auszuschalten, wurde stets für jede gesunde Rübe eine möglichst benachbart stehende kranke Rübe geerntet. Die Untersuchungen erfolgten in der zweiten Hälfte Oktober 1952. Da die Unterscheidung zwischen gesund und krank nach den äußeren Blattsymptomen erfolgte, ist wie bei entsprechenden Versuchen allgemein, nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß die als „gesund" bezeichneten Rüben nicht zumindest zum Teil infiziert waren, ohne daß sich die Symptome merklich ausprägten. Die festgestellten Unterschiede sind daher als Mindestwerte anzusehen.

Das Rübengewicht gilt für die in üblicher Weise geköpfte und gewaschene Rübe; unter „Rübenblatt" ist das Blatt samt den Köpfen zu verstehen. Die Gewinnung des Rübenbreies für die chemischen Untersuchungen erfolgte mittels einer Rübenbreisäge (Bauart Kleinwanzlebner Rübensamenzucht, Einbeck). Der Zuckergehalt wurde polari-

*) Die Untersuchungen erfolgten unter teilweiser Benützung von Mitteln, welche der Verein für Zuckerrübenforschung zur Verfügung stellte. Dem Leiter der Versuchsstelle Fuchsenbigl, Herrn Dipl.-Ing. A. Graf danken wir herzlichst für seine wertvolle Unterstützung der Arbeiten.

metrisch bestimmt. Der „schädliche Stickstoff", worunter Amide, Amine und Aminosäuren zusammengefaßt werden, welche beim Reinigungsprozeß im Rahmen der industriellen Zuckergewinnung nicht entfernt werden können, wurde im Filtrat der kaltwässerigen Digestion nach der Methode von Pavlas und Stanek (1934) bestimmt: Nach Zusatz einer Kupfernitrat-Natriumazetatlösung wird die Blaufärbung im Photozellen-Kolorimeter nach Lange gemessen. Das Meßergebnis ist nicht auf Rübengewicht sondern auf Zucker bezogen. Die Bestimmung der löslichen Asche erfolgte durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit des 1 : 19 verdünnten Preßsaftes. Dazu wurde eine Meßbrücke der Firma Hauke verwendet, bei der die Meßpunkteinstellung mittels eines magischen Auges erfolgt und deren Skala direkt den Aschengehalt in Prozent anzeigt.

Die Tabelle gibt die Ergebnisse wieder.

Im Mittel war der Minderertrag — bezogen auf die Werte gesunder Rüben — an Rübenwurzel 22·9%, im Zuckergehalt 4·7%, an Zuckerertrag 27·2% und an Blattertrag 9·9%. Der schädliche Stickstoff zeigte auf den Zuckergehalt bezogen eine Vermehrung um 34·3%. Im Aschengehalt ergab sich keine Veränderung: Im Mittel zeigten die gesunden Rüben einen Aschengehalt von 0·283% und die vergilbungskranken einen Gehalt von 0·277%; der Unterschied von 0·006% ist zufälliger Art (Zufallswahrscheinlichkeit $P > 50\%$). Auf den Zuckergehalt bezogen ergibt sich auf Grund des geringeren Zuckergehaltes der vergilbungskranken Rüben im Durchschnitt ein geringer Anstieg des Gehaltes an löslicher Asche; die Schwankungen sind sehr beträchtlich. Der Unterschied von durchschnittlich 2·9% ist zufälliger Art ($P > 50\%$).

Auf Grund holländischer Untersuchungsergebnisse berichtet Hijner (1951), daß der Aschegehalt der Rübe durch die Vergilbungskrankheit nicht beeinflußt wird, was sich zweifellos auf die auf das Rübengewicht berechnete Asche bezieht. Carruthers (nach Hull 1951) fand allerdings eine Steigerung von über 10%. Aus den Angaben von Björling (1949) errechnet sich bei einer Verminderung der Polarisation um 10% des Wertes gesunder Rüben eine Steigerung des auf Zucker bezogenen Aschegehaltes von 19·5%, was gleichfalls eine Erhöhung des absoluten Aschegehaltes anzeigt. Aus diesen Untersuchungsergebnissen darf geschlossen werden, daß die Beeinflussung des Aschegehaltes durch die Vergilbungskrankheit nicht gleichartig erfolgt.

Die festgestellte Vermehrung des schädlichen Stickstoffs um 34% fällt in den Rahmen der in der Literatur wiedergegebenen Erfahrungen: Heiling und Steudel (1932) fanden in einem Extremfall (Infektionsversuch) eine Erhöhung des schädlichen Stickstoffs in den vergilbungskranken Rüben auf das 2·8fache. Björling (1949) stellte bei Frühinfektion (15. Juni) eine Steigerung um 48 und bei „später" Infektion (15. Juli) eine solche um 25% fest. Carruthers (nach Hull 1951) gibt eine Steigerung um 26% an.

	Wurzelertrag		Zuckergehalt		Zuckerertrag		Schädlicher Stickstoff		Lösliche Asche		Blattgewicht	
	Gramm je gesunde Rübe	Kranke Rübe. Verlust %	% Zucker in gesunder Rübe	Kranke Rübe. Verlust % (gesund = 100 %)	Gramm je gesunder Rübe	Kranke Rübe. Verlust %	mg N/100 g Zucker in gesunder Rübe	Kranke Rübe. Anstieg %	g/100 g Zucker gesunde Rübe	Anstieg % in kranker Rübe	Gramm je gesunde Rübe	Kranke Rübe. Verlust %
Marchfeld	551	20·0	17·9	3·1	99	22·5	141	29·8	1·481	+33·5	323	−3·4
„	468	20·7	17·9	−1·0	84	20·0	144	35·4	2·026	− 7·2	300	13·7
„	402	13·2	18·8	3·3	76	15·9	93	74·2	1·670	+13·3	219	6·9
„	639	28·3	18·4	2·6	117	30·9	293	2·7	1·746	− 6·6	327	30·6
„	535	29·3	19·0	5·4	102	33·1	256	55·1	1·551	+ 2·9	354	15·3
„	493	6·3	17·8	5·2	88	11·2	324	0·9	1·706	+ 0·3	296	−7·4
„	597	31·0	19·0	4·7	113	34·4	197	17·8	1·384	+ 4·6	328	7·0
„	497	11·3	19·9	3·6	99	14·5	196	23·0	1·264	+ 7·9	214	3·3
„	491	25·0	20·4	5·3	100	29·1	283	−0·7	1·227	+ 1·8	186	23·1
Leiser Berge	693	32·5	18·8	11·9	130	40·6	142	97·9	1·313	+ 2·9		
„	753	31·7	18·3	−0·3	138	31·5			1·439	− 9·8		
„	540	29·8	19·0	8·6	103	35·8	104	41·3	1·470	+18·9		
„	559	28·3	19·1	7·7	107	33·8			1·380	−24·4		
Oberösterr.	979*)	22·2	17·2***)	4·5								
„	878**)	14·4	16·9***)	5·3								
Mittel		22·9		4·7		27·2		34·3		2·9****)		9·9

*) Mittel aus je 400 Rüben. **) Mittel aus je 600 Rüben (ansonsten Mittel aus je 100 Rüben).
) Zuckerwerte nach Lagerung vom 25. 10. 1952 bis 30. 12. 1952. *) Zufallswahrscheinlichkeit 40—50%.

Wenn im Jahre 1952 gerade jene österreichischen Zuckerfabriken, deren Einzugsgebiete am stärksten von der Vergilbungskrankheit betroffen waren, einen ungewöhnlich hohen Anfall an Melasse zu beklagen hatten, so ist dies ein Hinweis, daß wohl diese Krankheit die Ursache war. Auf Grund von Mitteilungen des Verbandes der Zuckerindustrie, Wien, errechnete sich für die Gesamtheit der österreichischen Zuckerfabriken aus der Ernte 1952 ein Anfall von 4·16% Melasse (bezogen auf das Gewicht der verarbeiteten Rübe) während in den vorausgegangenen Jahren der Melasseanfall nur 3·8% ausmachte.

Nach den vorliegenden Erfahrungen ist damit zu rechnen, daß ein Teil schädlicher Stickstoff rund 32 Teile Zucker in Lösung hält.

Insgesamt wird im Durchschnitt der untersuchten Proben der Anteil der in der Melasse auf Grund von Stickstoffsubstanzen zurückbleibenden Saccharose um 34·3% erhöht.

Neben der Verminderung der Zuckerausbeute wirkt sich die Erhöhung des schädlichen Stickstoffs auch noch in einer Erschwerung der Zuckergewinnung aus: Schlechteres Filtrieren, erhöhte Neigung zu Abscheidungen in Pumpen, Rohrleitungen und in der Verdampfstation, usw.

Wie aus den Untersuchungen von S t e u d e l (1953) bekannt ist, wird in den vergilbungskranken Blättern auch der Anteil an verdaulichem Eiweiß vermindert, zum Teil sogar sehr beträchtlich. Um diese Auswirkung der Vergilbungskrankheit auf den Futterwert zu erfassen, wurden Fütterungsversuche angeregt, welche die Landw. Chemische Bundesversuchsanstalt in Wien ausführt und welche bisher eine deutliche Verminderung der Milchleistung der Tiere ergaben; über diese Versuche wird die genannte Versuchsanstalt gesondert berichten.

Berücksichtigt man die Häufigkeit der Vergilbungskrankheit in den Zuckerrübenbeständen Niederösterreichs und des Burgenlandes, so gelangt man für diese Gebiete auf Grund der Untersuchungswerte zu einem Ertragsverlust von durchschnittlich etwa 10%; in Oberösterreich war 1952 die Auswirkung geringer. Zur Beurteilung dieser Schäden ist bemerkenswert, daß erstens die Vergilbungskrankheit schon relativ früh auftrat und bereits in der zweiten Junihälfte befallene Bestände vorhanden waren und zweitens die Übertragung der Vergilbungskrankheit hauptsächlich durch Doralis fabae erfolgt sein dürfte; diese Art verursacht im allgemeinen schwächere Symptome und Schäden als Myzodes persicae, die in den Rübenbeständen nur sehr selten festzustellen war. Anderseits wurde die Auswirkung der Krankheit durch die ausgesprochen trockene Witterung in den östlichen Teilen Niederösterreichs und im Burgenland wesentlich verstärkt.

Zusammenfassung

Die vergleichende Untersuchung gesunder und vergilbungskranker Rüben aus den gleichen Beständen erbrachte die folgenden Ergebnisse (Durchschnittswerte): Rübengewicht minus 22·9%, Zuckergehalt minus 4·7%, Zuckerertrag minus 27·2%, schädlicher Stickstoff (bezogen auf Zuckergehalt) plus 34·3%, Blattgewicht minus 9·9%. Der Gehalt an löslicher Asche blieb unverändert.

Summary

Comparative investigations of yellows-infested and non-infested sugar beets, showed the following differences in infested material: Weight of beets: 22·9% loss; sugar content 4·7% loss; sugar yield: 27·2% loss; content of noxious nitrogene (related to sugar content): 34·3% increase; weight of leaves: 9·9% loss; content of soluble ash: no increase.

Schriftenverzeichnis

Björling, K. (1949): Virusgulsot hos betor. Socker **7**, 119—140. schwedisch mit engl. Zusammenfassung.

Ernould, L. (1951): Les possibilités de lutte contre la jaunisse de la betterave. Publ. Inst. Belge Amel. Betterave Tirlemont **19**, Nr. 3, 71—138.

Hansen, H. P. (1950): Investigations on Virus Yellows of beets in Denmark. Transact. Dan. Acad. Techn. Sc. Nr. **1**, 68 pp.

Hartsuijker, K. (1951): De Vergelingsziekte der bieten. Meded. v. h. Inst. v. Ration. Suikerprod. Bergen op Zoom 21—15—1951, 275 pp.

Heiling, A. (1953): Der Einfluß der Vergilbungskrankheit auf den Ertrag der Rüben. Zucker **6**, 27—33.

Heiling, A. und Steudel, W. (1952): Das Problem der virösen Rübenvergilbung in Westdeutschland. Betteraviers européens. Nr. 2 vom 2. April 1952, 4 pp.

Hijner, J. A. (1951): Report on Virus Yellows in Europe, Netherlands Report. Presented to the 14th Congress oft the I. I. R. B. Brussels, February 1951 p. 49—55.

Hull, R. (1951): Report on Virus Yellows in Europe. Presented to the 14th Congress of the I. I. R. B. Brussels, February 1951, 57 pp.

Stanek, V. und Pavlas, P. (1934): Über eine schnelle, informative Methode zur Bestimmung des schädlichen Stickstoffes, der Amide und der Aminosäuren in der Rübe. Ztschr. f. d. Zuckerind. čsl. Republik **59**, 129—142.

Referate

Plate (H.-P.) und Frömming (E.): **Die tierischen Schädlinge unserer Gewächshauspflanzen, ihre Lebensweise und Bekämpfung.** Vlg. Duncker und Humblot, Berlin, 1953.

Das vorliegende Werk ist kein gewöhnliches Schädlingsbuch. Es behandelt ein verhältnismäßig enges Sachgebiet des Pflanzenschutzes mit nach dem derzeitigen Stand unserer Kenntnisse umfassender Gründlichkeit. Die Erforschung der Fauna der Gewächshäuser ist bis jetzt vielleicht allzu stiefmütterlich behandelt worden. Stellen die Gewächshäuser in unseren Klimaten doch einen ganz besonderen Lebensraum dar, der auch für unsere Kenntnisse um die Lebensweise vieler Freilandschädlinge von grundsätzlicher Bedeutung ist. Das Buch ist in vielen Kapiteln erst ein Anfang. Verff. haben den bisher vorliegenden Stoff gesammelt und — ein besonderer Wert des Werkes! — durch viele neue Beobachtungen bereichert. Die Grundlage bildeten Studien in den Berliner Gewächshäusern. Besondere Beachtung fand dabei u. a. die Molluskenfauna. Die Anordnung des Stoffes erfolgte nach dem zoologischen System, was bei der Fülle der behandelten Formen die Orientierung zweifellos dem Fachmann wie dem Praktiker wesentlich erleichtert. Der Hauptteil des Buches behandelt vor allem die Lebensweise der Schädlinge, deren genaue Kenntnis die Grundlage aller Bekämpfungsmaßnahmen ist. Spezielle Kapitel über die biologische, mechanische und chemische Bekämpfung schließen sich an. Von besonderem Wert für die Praxis ist die damit erstmalig auf dem Gebiet des Zierpflanzenbaues gegebene Zusammenfassung der bisherigen Erfahrungen mit den neuen synthetischen Insektiziden. Ein reichhaltiges, 19 Seiten umfassendes Schriftenverzeichnis sammelt die weitverstreute Spezialliteratur. Zoologische und botanische Sachregister erleichtern den Gebrauch des Werkes. Eine Fülle guter Abbildungen, zum Teil wertvolle Photos, denen man nur noch ein etwas besseres Druckpapier wünschen möchte, beleben diese für Wissenschaft und Praxis gleichermaßen erfreuliche Neuerscheinung. O. Böhm

Large (E. C.) and Dillon Weston (W. A. R.): **Ear Distortion in Barley and other Cereals Caused by Spraying with MCPA and 2,4-D. (Mißbildung der Ähren bei Gerste und anderen Getreidearten, verursacht durch Spritzbehandlungen mit MCPA und 2,4-D).** Journ. of Agr. Science, Vol. 41. Part 4., 1951, 338—349.

Die Ergebnisse der bei Cambridge in den Jahren 1949 und 1950 durchgeführten Versuche bestätigten die Beobachtungen von Aberg und Denward in Schweden und von Pedersen, Andersen und Hermansen in Dänemark über Schädigungen der Gerste infolge der Anwendung von MCPA und 2,4-D und zeigten, daß solche Schädigungen auch unter den in England herrschenden Bedingungen auftreten können. 1950 wurden ferner ähnliche Versuche in Kulturen von Sommerweizen und Hafer durchgeführt. Verschiedene Formen von Mißbildungen, welche an den Ähren von Gerste und Weizen und an den Haferrispen auftraten, werden beschrieben und in Abbildungen wiedergegeben. Bei den 1949 durchgeführten Versuchen kam MCPA in Wirkstoffmengen von 2, bzw. 6 lb. pro acre (d. i. annähernd 2¼, bzw. 6¾ kg pro Hektar) zur Anwendung. Bei gleichzeitiger Anwendung von MCPA und 2,4-D (1950) betrug die Wirkstoffmenge beider Mittel 2 lb. pro acre (annähernd 2¼ kg pro Hektar). MCPA und 2,4-D (Aminsalz) wurden also in säureäquivalenten Mengen angewendet, doch ist die Wirkstoffmenge von 2 lb. des Aminsalzes von 2,4-D pro acre zweimal so hoch wie jene

Menge, welche zur Vernichtung widerstandsfähigerer Unkräuter erforderlich ist. Dagegen entsprechen 2 lb. MCPA pro acre jener Menge, welche von den Erzeugerfirmen zur Bekämpfung widerstandsfähigerer Unkräuter empfohlen wird. MCPA verursachte bei Gerste (Sorte Kenia u. a.) bis zur Entwicklung von 2 Blättern, bzw. bis zur beginnenden Entwicklung des dritten Blattes angewendet, Schäden, welche durch Bildung röhrenförmiger (binsenartiger) Blätter und bogenförmig verkrümmter, mit der Spitze in der Blattscheide festgehaltener (trapped-gefangener) Ähren in Erscheinung traten. 2,4-D (als Aminsalz, 2 lb./acre angewendet) kann in diesen Stadien außerdem noch starke Wachstumshemmungen und Schädigungen der Wurzeln verursachen. Bei Anwendung von MCPA und 2,4-D im 3- und im 4-Blattstadium der Gerste kam es zu Schädigungen, welche durch Ausbildung lückiger Ähren gekennzeichnet waren. 2,4-D verursachte auch in diesen Entwicklungsstadien größere Schäden. Obgleich es durch das Auftreten solcher lückiger Ähren meist nur zu geringen Ertragsdepressionen kommt, sind damit Unregelmäßigkeiten in der Korngröße, Abnormalitäten in der Stellung und Ausbildung der Körner und mitunter eine Herabsetzung der Malzbildung verbunden. Nach der Ausbildung von mindestens 4 Blättern und von Seitentrieben mit mindestens 3 Blättern traten bei Gerste keine sichtbaren Schäden infolge der Anwendung von MCPA (bis zu 6 lb./acre) und 2,4-D (bis zu 2 lb./acre) auf. Während des Schossens, wenn das Getreide wieder empfindlich wird, wurden allerdings keine Behandlungen mehr durchgeführt. Bei Anzucht des von geschädigten Ähren stammenden Saatgutes konnte keine Vererbung der Schädigungen festgestellt werden. An Sommerweizen traten infolge der Behandlung mit 2,4-D ähnliche Schädigungen wie die an der Gerste beschriebenen auf, wenn die Anwendung in den 1- bis 4-Blattstadien der Weizenpflänzchen erfolgte. Die schwersten Schädigungen traten bei Hafer auf. Die Anwendung von 2,4-D (Aminsalz, 2 lb/acre) im 2- und 3-Blattstadium verursachte schwere Wachstumshemmungen, Schädigung der Wurzeln und Mißbildungen der Rispen. Letztere waren traubenartig verwachsen, unregelmäßig verzweigt oder teilweise verdorrt. Abnormale Wachstumserscheinungen traten jedoch auch nach allen in späteren Entwicklungsstadien des Hafers durchgeführten Behandlungen — die letzte erfolgte an etwa 30 cm (12 inch) hohen Haferpflanzen, bei welchen am Halm bereits der erste Knoten sichtbar war — auf. J. Schönbrunner

Buscaroli (G. F.): **Sperimentazione con Parathion contro la Carpocapsa pomonella L. (Versuche mit Parathion gegen Carpocapsa pomonella L.)** Rivista di Frutticoltura, **Vol. 14,** 1952, 167—170.

Der Autor berichtet über die mit Parathion gegen den Apfelwickler (Carpocapsa pomonella L.) erzielten Bekämpfungserfolge. Vergleichsweise wurden Bleiarseniat, Parathion und eine kombinierte Bleiarsen-Parathionbrühe zur Bekämpfung dieses Schädlings verwendet und folgende Ergebnisse erzielt: Die Behandlung mit Bleiarseniat lieferte 88·17%, mit Parathion 93·22% und mit der kombinierten Brühe 93·32% gesunde Früchte. Die ungespritzten Bäume ergaben nur 47·28% wurmfreies Obst. Dieser Bekämpfungserfolg wurde durch zwei Behandlungen gegen die erste Generation und drei Behandlungen gegen die zweite Generation erreicht. Obwohl der Verfasser die gute Wirksamkeit der kombinierten Brühe unterstreicht, bezweifelt er deren praktischen Wert, da bei Verwendung dieser lediglich 5·15% weniger wurmige Früchte geerntet wurden als bei Spritzungen mit Bleiarseniat allein. Verfasser weist auf die Störung des biologischen Gleichgewichtes hin, die die Verwendung von Parathion zur Folge hat. H. Böhm

Hedonal

Zur Unkrautbekämpfung im Getreide
u. auf Grünland. Kein unangenehmer
Geruch. Anwendung 1 bis $1^1/_2$ kg/ha

E 605 forte im Obstbau
E 605-Staub im Ackerbau (bes. Rübenbau)

Beratung und Bezugsquellennachweis:

Chemia
Abteilung Pflanzenschutz
Wien III., Am Heumarkt Nr. 10

Kauf Schädlingsbekämpfungsmittel bei Deiner Genossenschaft!

Seit über 50 Jahren besorgen die landwirtschaftlichen Ein- und Verkaufsgenossenschaften den gemeinsamen Einkauf landwirtschaftlicher Betriebserfordernisse, darunter auch

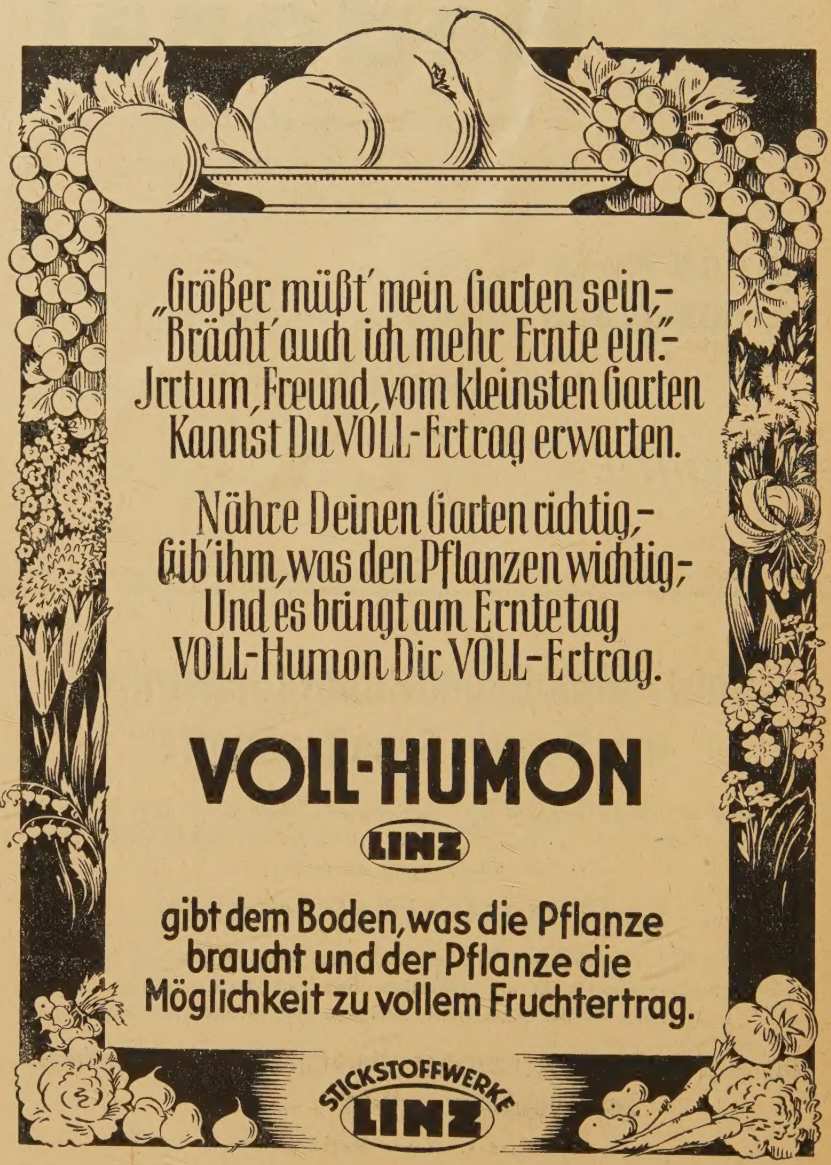
Schädlingsbekämpfungsmittel

Mehr als 850 Lagerhäuser, Filialen und Abgabestellen sind in neun Genossenschaftsverbänden in den einzelnen Bundesländern vereinigt, welche sich wieder in der genossenschaftlichen Spitzenzentrale, der

Warenzentrale österreichischer Verbände landwirtschaftlicher Genossenschaften - WÖV r. G. m. b. H.

Wien I., Neuer Markt 2

zusammengeschlossen haben.



Eigentümer, Verleger und Herausgeber: Bundesanstalt für Pflanzenschutz, verantwortlicher Redakteur: Dr. Ferdinand Beran, beide Wien 2., Trunnerstraße 5. Druck: Raiffeisendruckerei, Wien 18., Theresiengasse 58

Gegen Kräuselkrankheit

SULFBARIT

Gegen San José - Schildlaus

DOBOL oder
DOBOL - M

Gegen Haus- und Feldmäuse

MATA GIFTKÖRNER

Asid

ABT. PFLANZENSCHUTZ UND
SCHÄDLINGSBEKÄMPFUNG
WIEN II/27

Reiche Ernten!
Reine Früchte!

Baumol
in Verbindung mit Insektiziden,
das ideale Sommerspritzmittel
im Obstbau

Mormino-Spritzschwefel
gegen Oidium u. Rosenmehltau

Hans Tagger & Co., Graz
Puchstraße 17

LINDANE

99/100%

Gamma - Isomere
des
Hexachlorcyclohexans
(Benzene Hexachloride)

CLA Landwirtschaftliche Chemikalien G. m. b. H.
INGLHIM/Rhein

Generalrepräsentanz für Österreich
BENDER & Co. Ges. m. b. H.
Wien IV., Heumühlgasse Nr. 4

Gegen Engerlinge und Drahtwürmer
Streumittel
HEXATERR und
GAMMATERR
(geruchfrei)

Zur Blattlausbekämpfung und gegen die verschiedensten Insektenschädlinge in Obst-, Feld- und Gartenbau

HEXAMUL und
GAMMAMUL
(geruchfrei)

Erhältlich in Fachgeschäften und landwirtschaftlichen Genossenschaften

Arbeitsgemeinschaft der Firmen:
Carbolineumfabrik **R. AVENARIUS,** Wien 1., Burgring Nr. 1
„AGRO", Bautenschutz- und Pflanzenschutz .Ges. m. b. H., Wels, Wiesenstr. 84
FATTINGER Kommanditgesellschaft, Stübing ob Graz

Atomator

ein universelles Traktor-Anbaugerät
zum Spritzen, Stäuben und Nebelblasen

FEUERWEHRGERÄTE- UND SPRITZENFABRIK

Konrad Rosenbauer

LINZ/DONAU

WIEN – GRAZ – KLAGENFURT – BREGENZ

SHELL

D-D (BODENENTSEUCHUNGSMITTEL zur Bekämpfung von Engerlingen und Drahtwürmern)
AMTL. PFL.-REG. NR. 184

SHELLESTOL (NETZMITTEL, als Zusatz für Sommerspritzmittel) AMTL. PFL.-REG. NR. 143

SHELLESTONE (Wuchsstoffpräparat zur Verhütung von vorzeitigem Fruchtfall)

DYTROL (DNC-WINTERSPRITZMITTEL, GELBÖL)
AMTL. PFL.-REG. NR. 103

SHELL AUSTRIA AKTIENGESELLSCHAFT, WIEN I
SCHUBERTRING 14 TELEPHON R 22-5-60

Eigentümer, Verleger und Herausgeber: Bundesanstalt für Pflanzenschutz, verantwortlicher Redakteur: Dr. Ferdinand Beran, beide Wien 2., Trunnerstraße 5. Druck: Raiffeisendruckerei, Wien 18., Theresiengasse 58